

**ERFASSUNG DER HYPERKOAGULABILITÄT
BEI FRAUEN
UNTER ORALEN KONTRAZEPTIVA**

Peter Battis

1977

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE

DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. med. J. Zander

ERFASSUNG DER HYPERKOAGULABILITÄT BEI FRAUEN

UNTER ORALEN KONTRAZEPTIVA

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Battis

aus
Münster

- 1976 -

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter	Prof. Dr. med. H. Graeff
Mitberichterstatter	Prof. Dr. med. J. Zander
Dekan	Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung 24. II. 1977



Meinen Eltern

Meinen Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet

Meinem verehrten Doktorvater Herrn Professor Dr. med. H. G R A E F F möchte ich danken für die Überlassung des Themas und die großzügige Förderung, die er in jeder Hinsicht meiner Arbeit zukommen ließ.

Herrn Professor Dr. med. J. Z A N D E R danke ich für die großzügige Finanzierung, wodurch die Durchführung der Untersuchungen erst ermöglicht wurde.

Herrn Dr. rer.nat. R. H A F T E R möchte ich für seine tatkräftige Unterstützung, seinen vielen wertvollen Ratschlägen und nicht zuletzt für seine Geduld danken.

Den Krankenschwestern und Hebammenschülerinnen danke ich für ihre Mitarbeit.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	6
II. Material und Methode	
1. Beschreibung der Stichproben	7
2. Sammeln der Blutproben	8
3. Fibrinogenbestimmung	8
4. β -Alanin Fällung des Fibrinoges und seiner Derivate	10
5. Agarose Gelfiltration	11
6. Berechnung der LFMK-Werte	11
7. Statistische Methoden	13
III. Ergebnisse	14
IV. Diskussion	18
V. Zusammenfassung	22
VI. Summary	23
VII. Literaturverzeichnis	24
VIII. Lebenslauf	28

Einleitung

Retrospektive wie auch prospektive Studien zeigen, daß das Risiko der Entwicklung einer thromboembolischen Komplikation 5-10mal höher ist bei Frauen, die Ovulationshemmer nehmen, als bei solchen, die keine nehmen (Inman 1968; Vessey 1968). Leider gibt es neben diesen epidemiologischen Untersuchungen, die naturgemäß mit großen Fehlermöglichkeiten behaftet sind, kaum zuverlässige experimentelle Untersuchungen, die durch geeignete Labortests das individuelle Risiko einer thromboembolischen Komplikation erfassen.

Ein sogenannter Zustand von Hyperkoagulabilität konnte bei Patienten beobachtet werden, die für thromboembolische Krankheiten eher prädestiniert sind, so z.B. während der Schwangerschaft (Hafter et al. 1975), während des Wochenbettes (Graeff et al. 1976), nach Operationen (Fletcher et al. 1972) oder im fortgeschrittenen Stadium eines malignen Tumors (Hafter et al. 1975). Diese Hyperkoagulabilität spiegelt sich im Vorkommen von Thrombin induzierten Fibrinogenumsatzprodukten, d.h. löslichen Fibrinogen-Fibrin-Monomer-Komplexen (LFMK), im Plasma wider. Die physikochemischen und immunologischen Eigenschaften dieser Komplexe stimmen mit der Annahme einer dimerischen Struktur überein (Graeff et al. 1973; Kierulf 1973; von Hugo et al. 1975). Erst kürzlich wurden bei Pillennehmern ungewöhnliche Chromatographiebefunde des Plasmafibrinogens beobachtet (Asbeck et al. 1974; Alkjaersig et al. 1975). Ferner wurde nachgewiesen, daß eine erhöhte Aufnahmebereitschaft dieses Proteins für C-14 Glycin-Äthylester bestand (Pilgeram et al. 1974). Beide Beobachtungen weisen auf das Vorkommen von LFMK im Plasma hin. Die Auswertung von LFMK durch Gelfiltration von Plasmaproben, die durch β -Alanin-Fällung gewonnen wurden, ermöglicht die zur Zeit beste

direkte und quantitative Bestimmung des relativen und des absoluten Gehaltes an LFMK in mg/100ml Plasma (Hafter et al. 1975; Graeff et al. in press). Diese Methode wurde deshalb zur Erfassung von Hyperkoagulabilität bei Einnehmern von verschiedenen Pillen angewendet.

Material und Methoden

Zwei Studien wurden an völlig gesunden, aus ähnlichem sozialem Milieu stammenden Frauen durchgeführt (fast ausschließlich Krankenschwestern und Medizinstudentinnen). Die erste Untersuchung dauerte von Dezember 1974 bis Februar 1975. 21 Probandinnen im Alter von 18 bis 30 Jahren - Durchschnittsalter 23 Jahre - nahmen 21 Tage Ovulen^R (1 mg Ethynodioldiacetat und 100 µg Mestranol) ein, nachdem sie vorher bereits mindestens 9 Monate (im Durchschnitt 3,14 Jahre) einen anderen Ovulationshemmer eingenommen hatten.

Als Kontrollgruppe dienten 22 Frauen im Alter von 18 bis 28 Jahren - Durchschnittsalter 23 Jahre -, die entweder noch nie (n=14) oder mindestens 9 Monate keinen Ovulationshemmer eingenommen hatten.

Die zweite Studie wurde von Januar bis März 1975 durchgeführt. Die erste Gruppe bildeten 13 Frauen im Alter von 19 bis 29 Jahren (Durchschnitt 22 Jahre), die mindestens 3 Monate Neogynon^R (250 µg D-Norgestrel und 50 µg Äthinyllöstradiol) eingenommen hatten (durchschnittliche Einnahmedauer von Neogynon 2 1/2 Jahre). Die zweite Gruppe bestand aus Frauen im Alter von 18 bis 26 Jahren (Durchschnittsalter 22 Jahre), die mindestens 3 Monate Microgynon (150 µg D-Norgestrel und 30 µg Äthinyllöstradiol) eingenommen hatten (durchschnittliche Einnahme von Microgynon 9 Monate).

Ovulen^R (Boehringer, Mannheim, Germany)

Neogynon^R und Microgynon^R (Schering, West-Berlin)

Als dritte Gruppe dienten 17 Frauen im Alter von 18 bis 29 (Durchschnittsalter 22), die noch nie einen Ovulationshemmer eingenommen hatten.

Beide Studien wurden als Blindversuche durchgeführt, d.h. es war denjenigen, die die Laborwerte bestimmten, nicht bekannt, welches Blut zu welcher Gruppe gehörte.

Sammeln der Blutproben

Das Blut wurde jeweils am 20. oder 21. Tag nach Beginn der Menstruation in der Zeit von 11.00 Uhr bis 14.00 Uhr abgenommen. Die Blutentnahmen erfolgten mittels Einmalkanülen (0,80 x 32 mm) und 10-ml-Einmalspritzen im Zwei-Spritzen-System aus der Kubitalvene. Die ersten 5 ml Blut wurden verworfen. 1 ml Zitrat-Trasylol-Gemisch pH 7,5 wurden vorgelegt: 0,129 m tri-Na-Zitrat, 0,06 m TES (= Tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-amino-äthan-sulfonsäure), 100 000 KIE Trasylol (Bayer, Leverkusen) pro 100 ml.

Hämatokrit wurde mit antikoagulanzversetztem Blut mit Micro-Hematocrit-Tubes (Clay Adams, Parsipanny, N.J., USA) bestimmt. Thrombozyten wurden in der Neubauer-Zählkammer unter dem Phasenmikroskop nach Feissly und Ludin (1949) gezählt. Plättchenarmes Plasma wurde durch Zentrifugieren bei 1200 g (20 Min., 4°C) gewonnen. Das Plasma wurde nach Probeentnahmen für den Äthanol-Test und die Fibrinogenbestimmung mit 50 USP-E Heparin (Liquemin, Hoffmann-La Roche, Grenzach)/5 ml Plasma versetzt. Falls die Plasmaproben nicht gleich verarbeitet werden konnten, wurden sie bei -25°C eingefroren und bis zu 4 Wochen höchstens aufbewahrt.

Fibrinogenbestimmung

Die Bestimmung des Fibrinogengehalts im Plasma erfolgte in Anlehnung an die Methode von Blombäck und Blombäck (1956). 0,5 ml Plasma wurde mit 2,5 ml Phosphatpuffer (0,01 m, 0,15 m an NaCl, pH 6,35) und 0,15 ml Thrombinlösung (4,5 NIH Test-Thrombin, ORHT, Behringwerke, Marburg) versetzt. Nach 2 Stunden wurde das

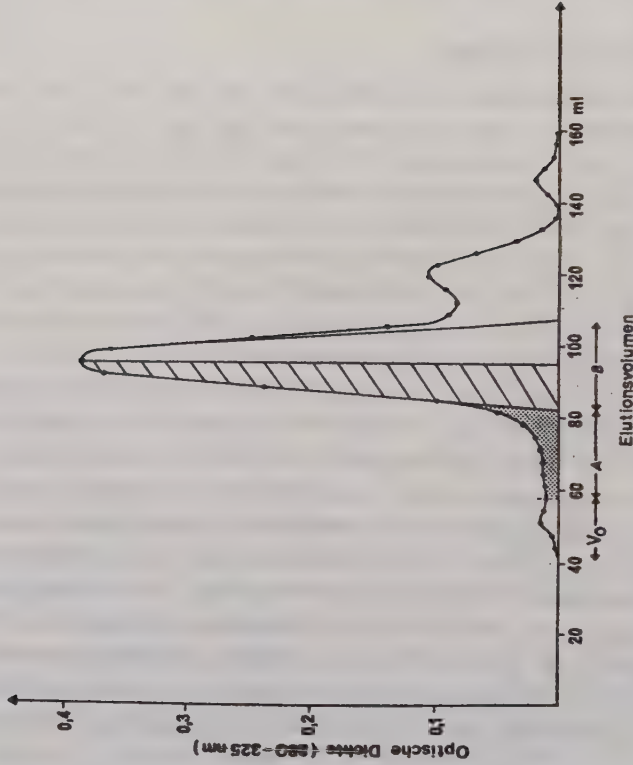


Abb. 1: Elutionskurve nach Agarose-Gel-Filtration (Biogel A-15 m) β -Alanin gefällter Plasmaproben. Der Kurvenabschnitt (A) zwischen dem Ausschlußvolumen (V_0) und dem aufsteigenden Teil des Fibrinogenpeaks (B) wird mit dem von A plus B verglichen. Der prozentuale Anteil an LFMK (in Relation zum Gesamtfibrinogengehalt) wird nach folgender Formel berechnet: $\% \text{ LFMK} = \frac{A}{A+B} \times 100$

Fibringerinnsel mit einem Glashäkchen entnommen, auf einem Nylongewebe syneräsiert, dreimal mit 0,15 m NaCl-Lösung gewaschen und in 10 ml 40prozentiger Harnstofflösung (0,2n an NaOH) gelöst. Nach Zusatz von 1 ml 0,3 m NaCl-Lösung wurde die optische Dichte in einer 1-cm-Quarzküvette bei 280 und 325 nm gegen eine Blindlösung gemessen (Spektralphotometer Hitachi 181). Die Berechnung erfolgte nach der Formel: $\text{mg Fibrinogen/ml} = E_{280-325 \text{ nm}} \times 6,927 \times 2$. Der Faktor 6,927 errechnet sich aus dem Extinktionskoeffizienten für Fibrinogen in Alkali von 15,87 $E \frac{1\%}{1 \text{ cm}}$ nach Hörmann und Gollwitzer (1966). Die Fibrinogenwerte wurden noch um die Antikoagulanzenverdünnung korrigiert, wobei entsprechend den Überlegungen von Seligsohn u. Mitarb. (1973) nach folgender Formel der Hämatokrit mit berücksichtigt wurde: $\text{mg \% Fibrinogen (korr.)} = \text{mg \% Fibrinogen} \times \frac{100 - \text{HK}}{(100 - \text{HK}) - 10}$, wobei HK für nichtkorrigierten Hämatokrit steht. Die Fibrinogenbestimmungen wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Die Berechnung der Präzision in der Serie ergab für die Methode einen Variationskoeffizienten von 1,8%. Der Äthanoltest erfolgte nach Godal und Abilgaard (1966), in der Modifikation mit Äthanol-TES-Pufferlösung, pH 7,8 (Kuhn u. Graeff, 1970).

Anreicherung von Fibrinogen und seinen Derivaten durch Fällung mit β -Alanin

Zu je 2,5 ml Plasma wurden unter Rühren im Eiswasserbad innerhalb von 10 Minuten 3 ml 40prozentige β -Alanin-Lösung zugetropft (Endkonzentration 2,5 m). Nach weiteren 10 Minuten Rühren wurde der Niederschlag bei 2000 g (20 Minuten, 4°C) abzentrifugiert und in 1 ml

TES-Trasyllol-Zitrat-Puffer, pH 7,5, unter Rühren bei Raumtemperatur wieder aufgelöst. Eine eventuell verbleibende Trübung wurde durch Zentrifugieren bei Raumtemperatur mit einer Tischzentrifuge (Hettich EBA III) entfernt. TES-Trasyllol-Zitrat-Puffer, pH 7,5: 0,06 m TES, 0,081 m NaCl, 0,0129 m tri-Na-Zitrat, 100 000 KIE Trasyllol/1000 ml, pH 7,5.

Agarose-Gelfiltration

Die Gelfiltration erfolgte an 4prozentiger Agarose (Biogel A-15 m, 100-200 mesh, Bio-Rad Lab., München). 1-ml-Proben, die 5-8 mg Protein enthielten, wurden auf 1,5 x 80-cm-Säulen aufgetragen und mit Tris-Cl-Zitrat-Puffer, pH 7,6, eluiert. Die Durchflußrate betrug 13 ml/h. Das Eluat wurde in Fraktionen zu je 3 ml aufgefangen. Doppelbestimmungen wurden unter gleichzeitiger Verwendung von 2 Säulen durchgeführt. Die optische Dichte der Fraktionen wurde bei 280 und 325 nm mit einem Spektralphotometer Hitachi 181 gemessen und die Differenz $E_{280-325 \text{ nm}}$ für jede Fraktion auf Millimeterpapier aufgetragen. Tris-Cl-Zitrat-Puffer, pH 7,6: 0,05 m Tris, 0,116 m NaCl, 0,0129 m tri-Na-Zitrat, 0,2 m ϵ -Aminokapronsäure (EACA), 0,025% Na-Azid, mit HCl auf pH 7,6 eingestellt.

Berechnung des relativen (Prozent des Gesamtfibrinogengehalts) und des absoluten Gehalts an LFMK im Plasma

In früheren Untersuchungen (Graeff u. Mitarb. 1973) konnte gezeigt werden, daß LFMK in einer Schulter vor dem Fibrinogenpeak eluiert werden (zwischen Ausschluß-

volumen und aufsteigendem Schenkel des Fibrinogenpeaks). Es handelt sich hierbei hauptsächlich um eine Komponente, die in der Polyacryl-amidgel-Elektrophorese eine elektrophoretische Beweglichkeit bei pH 8,6 von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ besitzt und aufgrund ihres Wanderungsverhaltens wahrscheinlich ein Dimer des Fibrinogens (Fibrinogen-Fibrinmonomer-Komplex) darstellt. Daneben werden auch noch Banden mit höherem Teilchengewicht (Oligomere) beobachtet.

Dieser Teil des Elutionsvolumens wurde planimetriert und mit der Fläche des Fibrinogenpeaks ($B/2 \times 2$) verglichen. Das Planimetrieren erfolgte durch Ausschneiden der entsprechenden Kurvenabschnitte und Auswiegen der Papierabschnitte auf einer Analysenwaage. Der Prozentgehalt an LFMK vom Gesamtfibrinogen errechnet sich nach folgender Formel: Prozent LFMK = $\frac{A}{A + B} \times 100$, wobei A und B in mg in die Formel eingesetzt werden. Der absolute Gehalt an LFMK in mg/100 ml Plasma errechnet sich wie folgt: LFMK mg/100 ml

$$= \frac{\text{LFMK \%} \times \text{Fibrinogen mg/100 ml}}{100} .$$

Der Nachweis von Fibrinogen und seinen Derivaten in der eluierten Vorschulter und im Fibrinogenpeak wurde auch durch Polyacrylamidgel-Elektrophorese vor und nach Reduktion mit Merkaptoäthanol und in einigen Fällen mit dem Staphylokokken-Clumping-Test (Behringwerke, Marburg) geführt.

Die Präzision der Bestimmungsmethode wurde an einem größeren Material durch Doppelbestimmungen (Präzision in der Serie) und durch Mehrfachbestimmungen aus gepoolten Proben (Präzision von Tag zu Tag) ermittelt.

Statistische Methoden

Zur Überprüfung einer Normalverteilung in den Populationen der Gruppen wurde der χ^2 Test durchgeführt. In beiden Untersuchungen mußte die Hypothese einer Normalverteilung zurückgewiesen werden (wahrscheinlich aufgrund der geringen Anzahl in den Gruppen). Deshalb wurde der verteilungsfreie Test von Mann und Whitney angewandt. Es lag grundsätzlich eine einseitige Fragestellung vor. Die Rechnungen wurden auf dem Computer Hp 98.30 durchgeführt.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der beiden Untersuchungen sind zusammenfassend in Tabelle 1 und 2 dargestellt. Weitere statistische Angaben erfolgen im Text.

Die erste Studie zeigt, daß unter der Einnahme von Ovulen der LFMK-Gehalt signifikant ansteigt. Der errechnete U-Wert betrug 77 und ist somit kleiner als der kritische U-Wert 99 bei $\alpha 0,001$. Der Mittelwert der Kontrollgruppe betrug 2,9 mit einer Standardabweichung von 0,5. Die entsprechenden Werte betrugen bei der Ovulenstudie 3,7 und 0,7 (Es ist uns bewußt, daß bei nicht bewiesener Normalverteilung in der Population die Angabe einer Standardabweichung nicht ganz korrekt ist, jedoch soll sie ein Hinweis für die Streuung sein). Ebenfalls steigt statistisch signifikant der absolute Gehalt an LFMK (mg/100 ml Plasma). Der errechnete U-Wert beträgt 44,5 und ist so wesentlich kleiner als der kritische U-Wert 99 bei $\alpha 0,001$. Der Mittelwert und die Standardabweichung betrug bei der Kontrollgruppe $6,5 \pm 1,8$ und bei der Ovulengruppe $9,9 \pm 2,3$. Der Fibrinogengehalt lag bei der Ovulengruppe statistisch signifikant höher ($p < 0,005$). Der errechnete U-Wert betrug 114,5 und war somit kleiner als der kritische U-Wert 118 bei $\alpha 0,005$. Der Mittelwert und die Standardabweichung betrug 224 ± 45 und bei der Ovulengruppe 263 ± 41 .

In der zweiten Untersuchung konnte gezeigt werden, daß auch unter der Einnahme eines Ovulationshemmers mit nur 30 μ g Äthinylöstradiol und 150 μ g D-Norgestrin (Microgynon) der Gehalt von LFMK % signifikant zunimmt ($p < 0,005$). Der errechnete U-Wert betrug 15,5 und liegt

Tabelle I

Gehalt an LFMK und Fibrinogen in Plasmen der Kontroll- und Ovulengruppe
(Mittelwerte und Standardabweichungen)

	Kontrollgruppen	Ovulengruppe	Signifikanz
ⁿ Zahl der Probanden	22	21	
^{LFMK} (% an Fibrinogengehalt)	$2,9 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,7$	$p < 0,001$
^{LFMK} (mg pro 100 ml)	$6,5 \pm 1,8$	$9,9 \pm 2,3$	$p < 0,001$
Fibrinogen (mg pro 100 ml)	224 ± 45	263 ± 41	$p < 0,005$

Tabelle II

Gehalt an LFMK und Fibrinogen in Plasmen der Kontroll-, Microgynon- und Neogynon-Gruppe (Mittelwerte und Standardabweichungen)

	A Kontroll- gruppe	B Microgynon- gruppe	C Neogynon- gruppe	Signifikanz I A : B II B : C
n	17	13	13	
Zahl der Probanden				
LFMK (% an Fibrinogen- gehalt)	2,80 ± 0,3	3,4 ± 0,3	3,8 ± 0,5	I p < 0,001 II p < 0,05
LFMK (mg pro 100 ml)	5,6 ± 0,9	7,6 ± 1,7	7,7 ± 1,2	I p < 0,005 II keine
Fibrinogen (mg pro 100 ml)	203 ± 28	223 ± 39	208 ± 30	I keine II keine

so wesentlich unter dem kritischen U-Wert 38 bei $\alpha 0,001$. Der Mittelwert betrug 3,4 bei einer Standardabweichung von 0,3. Die entsprechenden Werte der Kontrollgruppe $2,8 \pm 0,3$. Auch stieg der absolute Gehalt an LFMK (mg/100 ml Plasma) signifikant ($p < 0,005$) an. Der errechnete U-Wert betrug 43 und ist somit kleiner als der kritische U-Wert 49 bei $\alpha 0,005$. Der Mittelwert betrug 7,6 bei einer Standardabweichung von 1,7. Die entsprechenden Werte der Kontrollgruppe $5,6 \pm 0,9$. Der Fibrinogengehalt/100 ml Plasma unterscheidet sich nicht signifikant.

Weiter zeigte sich, daß der LFMK % Gehalt unter der Einnahme von einem Präparat mit $50 \mu\text{g}$ Äthinylöstradiol und $250 \mu\text{g}$ D-Norgestrel (Neogynon) signifikant höher ist ($p < 0,05$) als eben bei einem Präparat mit nur $30 \mu\text{g}$ Äthinylöstradiol. Der errechnete U-Wert lag bei 50 und ist somit kleiner als der kritische U-Wert 51 bei $\alpha 0,05$. Bei der "Neogynongruppe" betrug der Mittelwert 3,8 bei einer Standardabweichung von 0,5.

Keine signifikanten Unterschiede konnten beim Fibrinogengehalt/100 ml Plasma zwischen der Kontrollgruppe (keine Ovulationshemmer) und der Neogynongruppe gezeigt werden.

Der Äthanol-Test war in der Auslegung nach Godal und Abildgaard sowohl bei allen Probanden der Kontrollgruppen als auch bei allen, die orale Kontrazeptiva nahmen, negativ.

Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, daß der Gehalt an löslichen Fibrinmonomerkomplexen (LFMK) bei Frauen, die orale Kontrazeptiva nahmen, höher war als bei entsprechenden Kontrollgruppen, die im übrigen hinsichtlich Alter und sozialem Milieu vergleichbar waren. Die Erhöhung war unter der Einnahme von Neogynon (0,05 mg Äthinylöstradiol, 0,25 mg D-Norgestrel) signifikant größer als unter der Einnahme von Microgynon (0,03 mg Äthinylöstradiol, 0,25 mg D-Norgestrel) (vgl. Tab. II). Unter der Einnahme von Ovulen (0,1 mg Mestranol, 1,0 mg Ethynodioldiacetat) stieg außer dem LFMK Spiegel auch der Fibrinogengehalt an.

Die LFMK wurden in der vorliegenden Studie durch planimetrische Auswertung der Elutionskurven bestimmt, die nach Agarose-Gelfiltration der fraktionierten Plasmaproben erhalten wurden.

Die Reproduzierbarkeit der Methode erwies sich als zufriedenstellend wie aus Bestimmungen der Variationskoeffizienten aus Serienuntersuchungen hervorgeht (Haftner et al. 1975). Eine gewisse Fehlerquelle besteht jedoch darin, daß eine vollständige Trennung der LFMK vom Fibrinogen nicht möglich ist. Deshalb dürfte der gefundene LFMK-Wert von 2,8% für die Kontrollgruppe tatsächlich geringer sein.

Charakterisierung der Proteinketten und der Staphylokokken-Clumping-Test zeigen zusätzlich zu immunologischen Untersuchungen, daß das Material, das vor dem Fibrinogen von der Trennsäule eluiert wird, Fibrinogenderivate darstellt (Graeff et al. 1973; Haftner et al. 1975).

Eine Hauptkomponente zeigte eine elektrophoretische Beweglichkeit in der Polyacrylamid (PAA)-Gel-Elektrophorese bei pH-Wert 8,6 von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ (Graeff et al. 1973). Bei Affinitätschromatographie an Agarose gebundenem Fibrinogen dissoziierten die Derivate in einem Verhältnis von 1:1 in einen Teil, der adsorbiert wurde (Fibrinmonomere), und in Fibrinogen, welches nicht adsorbiert wurde.

Weitere Befunde, wie das Elutionsverhalten bei der Agarose-Gelfiltration und Bestimmungen der Aminoendgruppen stützen die Annahme, daß es sich bei den LFMK um Komplexe handelt, die im stöchiometrischen Verhältnis der Einzelkomponenten von 1:1 vorliegen.

Es kann in Übereinstimmung mit in vitro Befunden angenommen werden, daß LFMK von Thrombin auch in vivo induziert werden. Der Anstieg der thrombininduzierten Umsatzprodukte des Fibrinogens (LFMK) spiegelt so auf dem Weg über die Aktivierung des Gerinnungssystems einen Zustand von Hyperkoagulabilität wider. Das bedeutet, daß die Pillenehmer in unserer Studie sich in einem gewissen, wenn auch begrenzten Zustand der Hyperkoagulabilität befanden. Interessanterweise war diese Hyperkoagulabilität unter der Einnahme von Neogynon signifikant höher als unter der Einnahme von Microgynon. Berücksichtigt man den verschiedenen hohen Gehalt an Östrogen, so könnte diese Beobachtung in Bezug zu Studien gebracht werden, die eine Reaktion zwischen der Östrogendosierung und dem Auftreten von Thromboembolien proklamieren (Inman et al. 1970).

Der Anstieg des Fibrinogengehaltes bei Ovulen-Einnehmern könnte die Vermutung nahelegen, daß Steroide die Leber zu einer vermehrten Fibrinogensynthese stimulieren. Dieses stimmt gut mit der Beobachtung überein, daß Mestranol embryonale Leberzellen zu einer erhöhten Fibrinogensynthese stimuliert (Pindyck et al. 1975). Zwar kann auch Äthinylöstradiol nach dieser Untersuchung in geringerem Maße eine erhöhte Fibrinogensynthese in Gewebekulturen induzieren, hingegen zeigen unsere Ergebnisse, daß die Einnahme von Äthinylöstradiolhaltigen Ovulationshemmern wie Neogynon und Microgynon keinen erhöhten Fibrinogenspiegel bewirken. Deshalb müssen zusätzliche regulierende und hemmende Faktoren berücksichtigt werden, was weiteren Untersuchungen überlassen bleibt.

Hyperkoagulabilität per se darf nicht direkt in Relation mit dem erhöhten Auftreten von thromboembolischen Ereignissen gebracht werden. So ist die Schwangerschaft ein oft zitiertes Beispiel für Hyperkoagulabilität. Andererseits kann nicht davon gesprochen werden, daß eine Schwangerschaft an sich ein erhöhtes Thromboembolierisiko darstellt. Jedoch ist anzunehmen, daß diese Hyperkoagulabilität beim Hinzutreten eines weiteren Risikofaktors eine mehrfache Thrombosegefährdung beinhaltet. In diesem Sinne konnte gezeigt werden, daß Frauen während der Geburt und im Wochenbett ein 20-fach höheres Risiko haben, eine Thromboembolie zu entwickeln als vor der Geburt (Drill 1972).

Die Beziehung zwischen Hyperkoagulabilität und zusätzlichem Risikofaktor zeigt sich auch in der Beobachtung, daß das Thromboembolie-Risiko bei Patienten erhöht ist, die sich während der Einnahme von Ovulationshemmern einer Operation unterziehen müssen.

Die kontroversen Ansichten der epidemiologischen Analysen über den Zusammenhang zwischen der Einnahme oraler Kontrazeptiva und Thromboembolien wurden bereits von Goldzieher und Dozier (Goldzieher et al. 1975) diskutiert. Die Bestimmung von Hyperkoagulabilität durch die Auswertung von LFMK scheint eine geeignete Methode zur Festsetzung des Risikos gewisser Patientengruppen zu sein und kann zusätzlich das erhöhte Risiko in einem gegebenen Fall verdeutlichen.

Zusammenfassung

Lösliche Fibrinogenmonomerkomplexe (LFMK) wurden bei Frauen bestimmt, die verschiedene Ovulationshemmer einnahmen. Plasmaproben wurden mit β -Alanin gefällt und durch Gelfiltration der relative Gehalt an LFMK (Prozent des Gesamtfibrinogens) und der absolute Gehalt (mg pro 100ml Plasma) quantitativ bestimmt. Es wurden Frauen, die Ovulationshemmer einnahmen, mit Kontrollgruppen verglichen, die hinsichtlich Alter, Zahl der Schwangerschaften und sozioökonomischem Milieu übereinstimmten. Es konnte ein signifikant erhöhter Spiegel von LFMK gegenüber den Kontrollgruppen festgestellt werden. Dieser Anstieg war bei der Gruppe, die Neogynon (0,05 mg Äthinylöstradiol, 0,25 mg D-Norgestrel) einnahmen, größer als bei einer Gruppe, die Microgynon (0,03 mg Äthinylöstradiol, 0,15 mg D-Norgestrel) einnahmen. Bei der Gruppe, die Ovulen (0,1 mg Mestranol, 1 mg Ethynodioldiacetat) nahmen, konnte zusätzlich zu dem Anstieg der LFMK ein erhöhter Fibrinogenspiegel nachgewiesen werden. Die Befunde zeigen, daß die Einnahme von Ovulationshemmern zu einer begrenzten Hyperkoagulabilität führt.

Summary

Soluble fibrin monomer complexes were determined in users of different oral contraceptives. Quantitative gel filtration of β -alanin precipitated plasma samples yielded the relative (per cent of total fibrinogen content) and absolute (mg per 100ml plasma) amount of SFMC. Increased levels of SFMC were observed in users of oral contraceptives, when compared to age, parity and socioeconomic background matched control groups. This increase was more pronounced in users of Neogynon (0.05 mg ethinyl estradiol, 0.25 mg norgestrel) than in the ones using Microgynon (0.03 mg ethinyl estradiol, 0.15 mg norgestrel). Users of Ovulen (0.1 mg mestranol, 1 mg ethynodiol diacetate) in addition to the rise of SFMC levels exhibited elevated fibrinogen levels in plasma. The data presented indicate a limited state of hypercoagulability in users of oral contraceptives.

Literatur

1. Alkjaersig, N., Fletcher, A., Burstein, R.: Association between oral contraceptive and thromboembolism: A new approach to its investigation based on plasma fibrinogen chromatography.
Am.J.Obstet.Gynec. 122, 199 (1975).
2. Asbeck, F., Bebbler, J., van de Loo, J.: Oral contraception and increased formation of high molecular weight derivatives of fibrinogen.
Brit. Med. J. 3, 769 (1974).
3. Blombäck, B., Blombäck, M.: Purification of human and bovine fibrinogen.
Arkiv Kemi 10, 415 (1956).
4. Drill, V.A.: Oral contraceptives and thromboembolic disease I + II
JAMA 219, 583 (1972).
5. Fletcher, R., Alkjaersig, N., O'Brien, J.: Millbank Mem. fund Q. 50, 170, 1972
cited according to 1.
6. Godal, H.C., Abildgaard, U.: Gelation of soluble fibrin in plasma by ethanol.
Scand. J. Haematol. 3, 342 (1972).
7. Graeff, H., von Hugo, R.: Identification of fibrinogen derivatives in plasma samples.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 27, 610 (1972).
8. Graeff, H., von Hugo, R., Hafter, R.: In vivo formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma.
Thrombos. Res. 3, 465 (1973).

9. Graeff, H., Wiedemann, A., von Hugo, R., Hafter, R.: Amount and distribution pattern of soluble fibrin monomer complexes during the early puerperium.
Am.J.Obstet.Gynecol. 124, 21 (1976).
10. Hafter, R., Graeff, H.: Molecular aspects of defibrination in a reptilase-treated case of "dead fetus syndrome".
Thrombs. Res. 7, 391 (1975).
11. Hafter, R., Schneeberger, T., Tafel, K., Ernst, E., Graeff, H.: Bestimmung von löslichen Fibrinmonomerkomplexen zur Erfassung der Hyperkoagulabilität in der Schwangerschaft und unter der Geburt.
Geburtsh. und Frauenheilkunde 35, 518 (1975).
12. Hafter, R., Tafel, K., Bocaz, J.A., Jilg, W., Graeff, H.: Über den Nachweis der Hyperkoagulabilität bei Patientinnen mit gynäkologischen Karzinomen und die Charakterisierung einiger in diesem Zusammenhang auftretenden Fibrinogenfraktionen.
DAB-Tagung München, Februar 1975
Thrombos. Diathes. haemorrh. Suppl. (1976) in press
13. Hörmann, H., Gollwitzer, R.: Analytische Untersuchungen über Rinderfibrinogen und -fibrin.
Z. Physiol.Chem. 346, 21 (1966).
14. von Hugo, R., Hafter, R., Stemberger, A., Graeff, H.: Soluble fibrin monomer complexes demonstrated by agarose gel filtration and by adsorption on insolubilized fibrinogen. A comparative study.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 34, 216 (1975).

15. Inman, W.H.W., and Vessey, M.P.: Investigation of deaths from pulmonary, coronary, and cerebral thrombosis and embolism in women of child-bearing age.
Brit.Med.J. 2, 193 (1968).
16. Inman, W.H.W., Vessey, M.P., Westerholm, B., Englund, A.: Thromboembolic disease and the steroidal content of oral contraceptives. A report to the committee on safety of drugs.
Brit.Med.J. 2, 233 (1970).
17. Kierulf, P.: Studies on soluble fibrin in plasma. IV: Isolation and characterization of the clottable proteins obtained from thrombin incubated plasma upon gelation with ethanol.
Thromb. Res. 3, 613 (1973).
18. Kuhn, W., Graeff, H.: Gerinnungsstörungen in der Geburtshilfe.
Stuttgart: Thieme 1970.
19. Pilgeram, L.O., Ellison, J., von dem Busche, G.: Oral contraceptives and increased formation of soluble fibrin.
Brit.Med.J. 3, 556 (1974).
20. Royal College of General Practitioners. Oral contraceptives and health; an interim report from the oral contraception study of the Royal College of General Practitioners. New York, Pitman Publishing Corporation, p. 100, (1974).
21. Sachs, Lothar, Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York

22. Seligsohn, U., Rapaport, S.J., Kuefler, P.R.:
Extraadrenal effect of ACTH on fibrinogen
synthesis.
Am.J.Physiol. 224, 1172 (1973).
23. Pindyck, J.M.W., Mosesson, M., Roomi, M.W.,
Levere, R.D.: Steroid effects on fibrinogen
synthesis by cultured embryonic chicken hepa-
tocytes.
Biochem. Med. 12, 22 (1975).

Lebenslauf

Am 29.11. 4. wurde ich als Sohn des Ersten
Staatsanwaltes Paul Battis und dessen Ehefrau
Annemarie Battis, geb. Kerkhoff, in Lock-
weiler geboren. Februar 68 Abitur. Ab SS 1968
Studium der Theologie und Psychologie in Münster.
Ab WS 70 Studium der Psychologie in Salzburg und
gleichzeitig Medizinstudium in München. WS 71/72
naturwissenschaftliche Vorprüfung. SS 72 ärzt-
liche Vorprüfung. Seit dem 18. 10. 1973 befinde
ich mich im Staatsexamen im Fach h. Medizin.

München, den 1.12. 1976

